Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 566-574

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 574-566

بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره آویشن شیرازی و تیمول بر ماندگاری قارچ خوراکی دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*)

مینو رستگار[1]- سید اسماعیل رضوی[2]*- پونه ابراهیمی[3]

تاریخ دریافت: 1394/03/03
تاریخ پذیرش: 1394/11/05

چکیده

پوشش خوراکی حاوی عصاره آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) به‌عنوان عامل جلوگیری‌کننده از فساد میکروبی و افزایش ماندگاری قارچ خوراکی دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) مورد مطالعه قرار گرفت. با استفاده از دستگاه GC Mass ترکیب‌های موجود در آویشن شیرازی شناسایی و مقدار تیمول به‌عنوان ترکیب ضدمیکروبی با استفاده از دستگاه HPLC اندازه‌گیری شد. هم‌چنین شناسایی بار میکروبی در سطح کلاهک قارچ و اثر عصاره آویشن و تیمول با غلظت‌های 70و 105 میلی‌گرم بر لیتر در محیط کشت غذایی بر روی باکتری و کپک بررسی گردید. بدین منظور کلاهک رسیده قارچ دکمه‌ای با کربوکسی متیل‌سلولز 1 درصد به‌همراه عصاره آویشن شیرازی با سه غلظت 82/5، 125و 187/5 میلی‌گرم در لیتر پوشش داده و در دمای 8 درجه سلسیوس به‌مدت دو هفته نگه‌داری شدند و بار میکروبی در روز اول، هفتم و چهاردهم مورد بررسی گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد، باکتری *Psudomonas* sp. و کپک *Aspergillus* sp. در مراحل مختلف نگه‌داری در سطح کلاهک نمونه شاهد رشد می‌کنند. همچنین درسطح محیط غذایی و کلاهک پوشش داده شده با افزایش غلظت آویشن و تیمول از تراکم باکتری و کپک کاسته شد. به‌طوریکه در غلظت 187/5 میلی‌گرم بر لیتر عصاره آویشن و 105 میلی‌گرم بر لیتر تیمول برای جلوگیری از رشد کپک و غلظت 125 میلی‌گرم بر لیتر عصاره آویشن و 70 میلی‌گرم بر لیتر تیمول برای جلوگیری از رشد باکتری مناسب می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: قارچ دکمه‌ای، آویشن شیرازی، تیمول، پوشش خوراکی، زمان ماندگاری

مقدمه

قارچ دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) دارای رطوبت حدود 90 درصد است. این مقدار بالای رطوبت باعث آسیب‌پذیرتر شدن در برابر میکروب‌ها و واکنش‌های شیمیایی می‌شود (Hershko *et. al*, 1998). در چنین شرایطی باکتری‌ها و کپک‌ها، با فعالیت آنزیماتیک و تغییرات بیوشیمیایی می‌توانند در طول مدت نگه‌داری موجب فساد قارچ شوند (Masson *et. al*, 2002). برای کاهش سرعت فساد قارچ از روش‌هایی مانند بسته‌بندی اصلاح شده، پوشش‌دهی تیمار با محلول‌های ضدمیکروبی و قهوه‌ای شدن استفاده شده است (زاهدی و همکاران، 2010). هم‌چنین پژوهش‌هایی جهت استفاده از عصاره‌های گیاهی به‌منظور بهبود ماندگاری مواد غذایی، تاخیر رشد قارچ‌ها و جلوگیری از تولید سموم قارچی صورت گرفته است (Durling *et al*,. 2007 ;Rasooli *et al*,. 2006;Thompson, 1989).

آویشن شیرازی متعلق به خانواده Laminaceae بوده و گیاه بومی ایران می‌باشد (Ali *et al*,. 2000). این گیاه دارای ترکیب اصلی از نوع اسانس روغنی بوده که حاوی مشتقات فنلی مانند کارواکرول و تیمول می‌باشد (Aligiannis *et al*,. 2001). واکنش اجزای اسانس با یکدیگر نقش مهمی در تعیین اثر ضدمیکروبی گیاه ایفا می‌کند. به‌طوری‌که تیمول و کارواکرول اثرات تشدیدکنندگی ضدمیکروبی دارند (Didry *et al*,. 1994). البته تیمول نسبت به کارواکرول نقش مهم‌تری در افزایش خاصیت ضدمیکروبی ایفا می‌کند. هر چند کارواکرول از طریق تغییر در نفوذپذیری کانال‌های H^+/K^+ و شیب یونی در غشای سلولی منجر به توقف و اختلال عملکرد سلول و مرگ می‌شود (Ultee *et al*,. 1999). محبوبی و فیض آبادی (1388) نشان دادند، قارچ‌ها نسبت باکتری‌ها به اسانس‌های مرزه، مرزنجوش و آویشن حساس‌تر می‌باشند، ولی نسبت به اسانس اکالیپتوس باکتری‌های از قارچ‌ها حساس‌تر بودند. تیمول و کارواکرول به‌عنوان اجزای اصلی اسانس مرزنجوش، آویشن و

1- کارشناس ارشد، صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
2- استادیار، گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
3- دانشیار، دانشگاه گلستان، گروه شیمی
(* - نویسنده مسئول: Email: razavi@gau.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.47068

کارواکرول به‌عنوان جزء عمده در اسانس مرزه نقش مهمی در این اثر بخشی داشت. بطورکلی اسانس‌های گیاهی روی قارچ‌ها اثر مهارکنندگی بیشتری نسبت به باکتری‌ها داشته، ولی اثر باکتری‌کشی آنها بیشتر از قارچ‌کشی می‌باشد (Kraft and Hobbs, 2004).

بررسی‌های جوانمرد و رمضان (1388)، نشان داد که پوشش‌های حاصل از پروتئین آب پنیر حاوی مواد ضدمیکروبی طبیعی بوده و توانایی جلوگیری از آلودگی و رشد ثانویه قارچ‌ها را بر روی سطح مغز پسته خواهند داشت و افزایش میزان عصاره الکلی در ترکیب فیلم خوراکی پروتئین آب پنیر باعث کاهش رشد قارچ *Aspergillus flavus* بر روی محیط کشت می‌شود علاوه بر این چنین پوشش‌ها می‌توانند از تغییرات انبارمانی مغزهای خوراکی مانند کاهش وزن، فساد میکروبی و جذب رطوبت کاسته، منجر به افزایش ماندگاری و سلامت مغزهای خوراکی در طی مدت ذخیره سازی شوند (Doster *et al*,. 1994).

ترکیب‌های غیرطبیعی دارای اثرات سوء برای مصرف‌کنندگان می‌باشد و ضمن تخریب محیط زیست، سلامت استفاده‌کنندگان را به خطر می‌اندازند. از طرفی اسانس‌های طبیعی که زمینه مواد اولیه و تولید آن‌ها در کشور با قابلیت بسیار بالایی موجود است، می‌توانند جایگزین مناسبی برای نگهداری موادغذایی باشند. بدین منظور بررسی تأثیر پوشش خوراکی حاوی عصاره آویشن شیرازی و تیمول بر زمان ماندگاری قارچ خوراکی دکمه‌ای مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ابتدا کلاهک قارچ خوراکی دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) رادر مهر 93 از مرکز پرورش قارچ شهرستان آق‌قلا تهیه شد و به یخچال با دمای 8 درجه سلسیوس منتقل گردید (زاهدی و همکاران، 1390). سپس مراحل تیمار، پوشش‌دهی و استفاده از عصاره آویشن شیرازی به شرح ذیل انجام شد.

تهیه محلول پوشش‌دهی

محلول پوشش‌دهی با افزودن 1 درصد وزنی- حجمی پودر کربوکسی متیل‌سلولز (مرک) و گلیسرول (50% وزنی/ وزنیCMC) و حرارت‌دهی تحت هم‌زدن انجام شد (زاهدی و همکاران، 1390).

روش عصاره‌گیری آویشن شیرازی

عصاره‌گیری بر اساس روش دورلینگ و همکاران (2007) انجام شد. برای این کار مقدار 20 گرم آویشن شیرازی که از شرکت داروسازی گیاه اسانس گرگان تهیه شده بود را آسیاب نموده و پودر بدست آمده را داخل بشر 120 میلی‌لیتر حلال اتانول/ آب (75 قسمت الکل– 25 قسمت آب) اضافه شده و داخل انکوباتور شیکردار در دمای 40 درجه سلسیوس به مدت 3 ساعت تکان داده، سپس توسط روتاری اواپراتور حلال کاملا از تفاله جدا گردید. ماده خشک حاصل از روتاری را با غلظت 48 درصد تهیه و عصاره آویشن بدست آمده را در ظرف تیره، داخل یخچال نگهداری گردید (اجنوردی و همکاران، 1391).

شناسایی ترکیبات آویشن شیرازی

برای شناسایی ترکیبات آویشن شیرازی از دستگاه GC Mass مدل VARIAV CP3800 و ستون VF5MS استفاده گردید. عصاره آویشن بدست آمده به دستگاه تزریق گردید و ترکیب‌های شیمیایی مرتبط با اهداف آزمایش مشخص گردید.

جهت اندازه‌گیری مقدار تیمول در آویشن از دستگاه HPLC استفاده شد. مشخصات دستگاه HPLC مدل هیتاچی دتکتور Diode Array طول موج 210 نانومتر فاز استونیتریل/ آب به نسبت 40/60 و ستون RP18 (250×4mm, 5µm) و جریان 1 ml/min بکار گرفته شد. برای انجام آزمایش مقدار 20 میکرولیتر از عصاره آویشن در غلظت 125 و 187/5 میلی‌گرم بر لیتر و تیمول در غلظت‌های استاندارد 5، 10، 35، 50 و 110 میلی‌گرم بر لیتر تزریق شد و منحنی آن رسم گردید. سپس برای محاسبه مقدار تیمول در عصاره آویشن شیرازی از منحنی استاندارد تیمول استفاده گردید.

تیمار قارچ

کلاهک قارچ با محلول ضدقهوه‌ای شدن اسید اسکوربیک 1درصد به مدت 3 دقیقه تیمار، سپس با آب شستشو داده شد تا بقایای اسید از روی قارچ زدوده شود. کلاهک قارچ روی کاغذ جاذب قرار داده شد تا رطوبت اضافی آن گرفته شود. در ادامه کلاهک‌ها را به مدت 3 دقیقه داخل محلول پوشش کربوکسی‌متیل سلولز حاوی عصاره آویشن شیرازی با غلظت‌های 82/5، 125و 187/5 میلی‌گرم بر لیتر قرار داده تا ماده پوشش جذب سطح کلاهک قارچ گردد. سپس نمونه تیمار شده از محلول پوشش خارج و به مدت زمان 5 دقیقه بر روی سبد مشبک در دمای اتاق قرار گرفته تا مواد اضافی خارج گردد. در انتها کلاهک‌های تیمار شده به‌صورت انفرادی وزن و درون ظرف بسته‌بندی قرار گرفته و به یخچال 8 درجه سلسیوس منتقل گردید (زاهدی و همکاران، 1390).

بررسی میکروبی

برای این هدف از سطح کلاهک قارچ‌های تیمار شده در سه زمان روز اول، هفتم و چهاردهم نمونه‌برداری صورت گرفت. ابتدا قطعاتی به‌ابعاد 3×3 سانتی‌متر از پوست کلاهک را برداشته و در لوله حاوی 25 میلی‌لیتر پپتون-آب قرار داده و بعد از به هم‌زدن به مدت 2 دقیقه 5 میلی‌لیتر از سوسپانسیون بدست آمده را بر محیط کشت غذایی نوترینت-آگار (ن-آ) برای بررسی آلودگی باکتری و

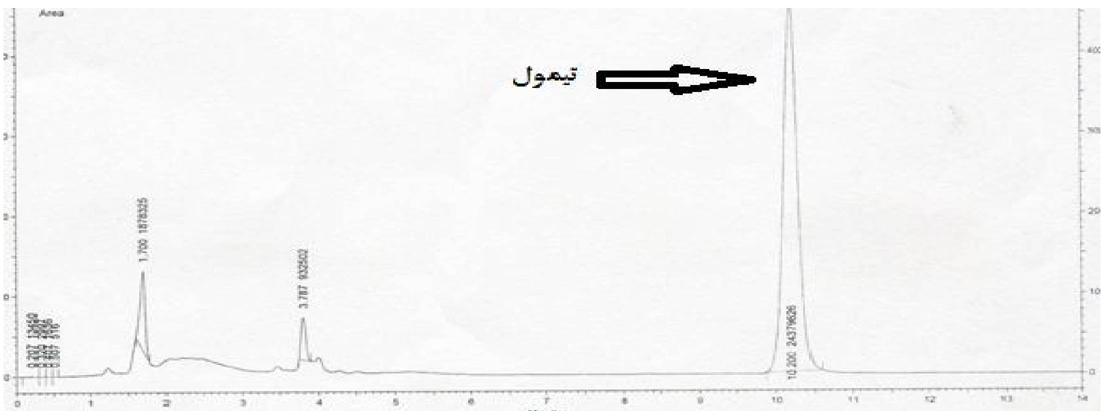
سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (پ-د-ا) جهت بررسی کپک کشت داده شدند. نمونه‌های کشت داده شده در دمای 28-25 درجه سیلسیوس به‌مدت 3 تا 5 روز نگه‌داری شدند. سپس با آزمون‌های میکروبی و بررسی ریخت‌شناسی خردسازوارهای رشد یافته، شناسایی شدند (ژیانگ، 2013).

تعیین حداقل غلظت بازدارندگیMIC

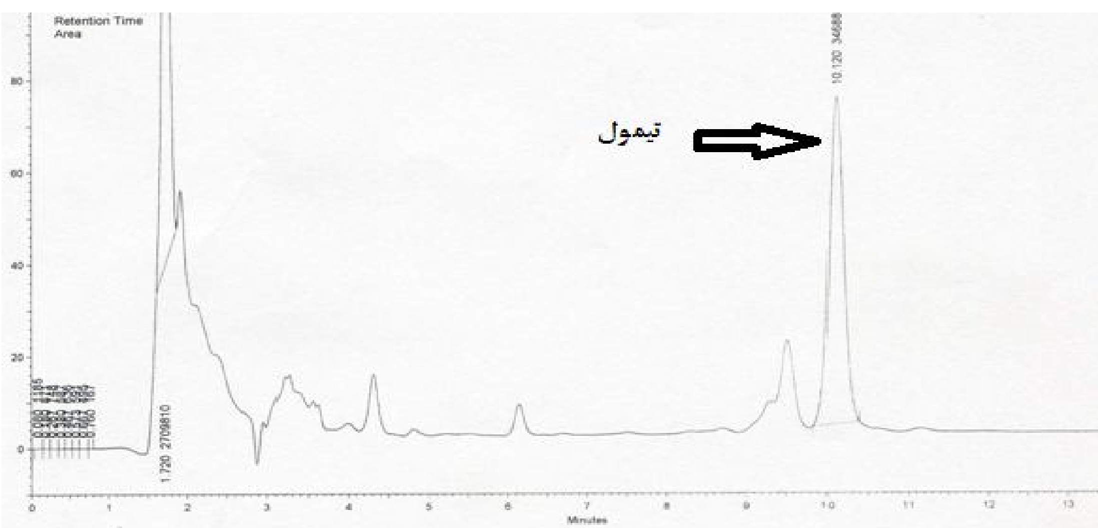
ابتدا محیط کشت غذایی ن-آ و پ-د-آ تهیه و در پتردیش ریخته شد. بر اساس آزمایش اولیه به عمل آمده حدود غلظت مناسب عصاره آویشن تعیین شد. سپس در قسمت وسط محیط کشت غذایی چاهکی ایجاد و داخل آن به‌مقدار 0/125 میلی‌لیتر از عصاره آویشن شیرازی با غلظت‌های 82/5، 125و 187/5 میلی‌گرم بر لیتر و تیمول با غلظت‌های70 و 105 میلی‌گرم بر لیتر ریخته شد. سپس در اطراف چاهک با فاصله 3 سانتی‌متری باکتری و کپک جدا شده در سه تکرار کشت داده شدند و نمونه‌ها در دمای 28-25 درجه سیلسیوس نگهداری شدند. برای تعیین میزان بازدارندگی، میزان ناحیه ممانعت از رشد باکتری و کپک در روز اول، هفتم و چهاردهم اندازه‌گیری شد (جوانمرد و رمضان، 1388).

نتایج و بحث

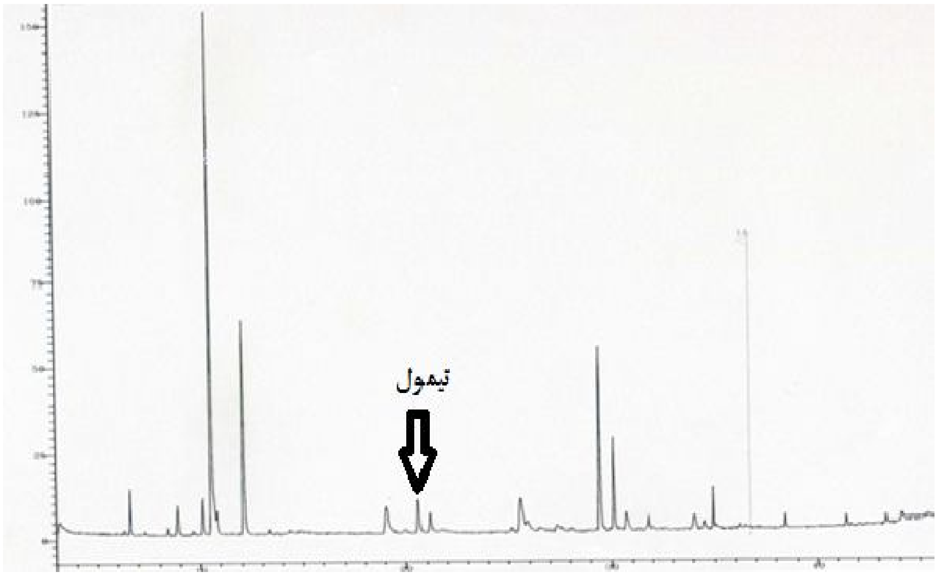
با توجه به منحنی استاندارد بدست آمده مقدار تیمول در عصاره آویشن 125 و 187/5 به‌ترتیب 70 و 105 میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب تعیین شد (شکل 1، 2 و3). از این غلظت‌های بدست آمده برای تیمول در بررسی میزان بازدارندگی میکروبی استفاده گردید.



شکل 1- پیک استاندارد تیمول غلظت 50 میلی‌گرم بر لیتر (زمان 10/2 دقیقه)، دستگاه HPLC



شکل 2- پیک عصاره آویشن غلظت 125 میلی‌گرم بر لیتر (زمان 10/12 دقیقه)، دستگاه HPLC



شکل 3- پیک‌های مربوط به عصاره آویشن شیرازی، دستگاه GC Mass (پیک تیمول در زمان 20/6 دقیقه)

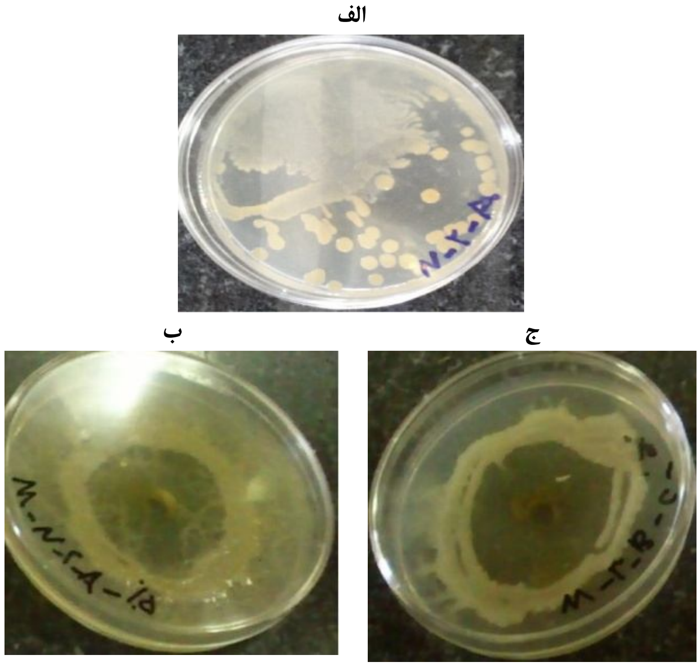
جدول 1- عصاره آویشن شیرازی اندازه‌گیری شده توسط دستگاه GC Mass

نام ترکیب	درصد ترکیب
3-Carene	2.093
Ø-pinene	0.404
O-Terpelene	1.970
p-Cymene	34.939
P-Cineole	0.382
p- Terpinen	13.628
R-Pluegone	0.326
Thymol	2.962
Carvacrol	5.430
Caryophyllene	0.313
Ledene	0.824
Spathulenol	1.475

نتایج بدست آمده از کشت‌های انجام شده باکتری (*Psudomonas* sp.) و کپک (*Aspergillus* sp.) سطح کلاهک‌ها جداسازی و شناسایی شدند (شکل4و 5). نتایج بدست آمده از اثر عصاره آویشن شیرازی بر رشد باکتری و کپک مشخص نمود که افزایش غلظت آویشن شیرازی بر جمعیت باکتری و کپک تأثیر مستقیم دارد، به‌طوری‌که بر روی محیط کشت غذایی میزان رشد باکتری (*Psudomonas* sp.) در غلظت 82/5 میلی‌گرم بر لیتر 1 سانتی‌متر ناحیه بازدارنده از رشد و در غلظت 125 میلی‌گرم بر لیتر به 2 سانتی‌متر ناحیه بازدارنده از رشد رسید (شکل 4- ب، ج و شکل 6). البته در غلظت 187/5 میلی‌گرم بر لیتر هیچ‌گونه باکتری رشد نکرد. ولی میزان رشد در مورد کپک (*Aspergillus* sp.) در غلظت 125 میلی‌گرم بر لیتر به مقدار1 سانتی‌متر ناحیه بازدارنده از رشد و در 187/5 میلی‌گرم بر لیتر به 2 سانتی‌متر ناحیه بازدارنده از رشد رسید (شکل5- ج، د و شکل6).

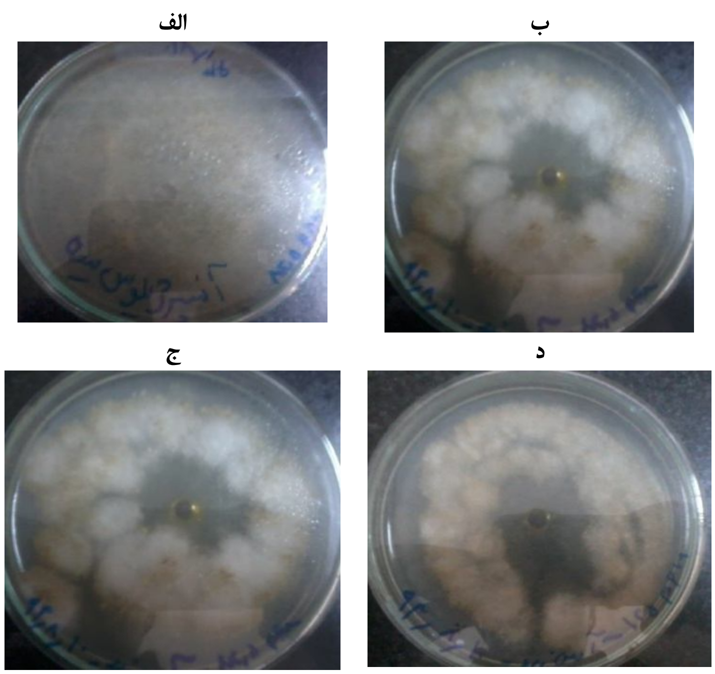
فراوانی باکتری (*Psudomonas* sp.) و کپک (*Aspergillus* sp.) در نمونه‌های کلاهک قارچ تیمار شده و شاهد روز اول در تمام تیمارها یکسان و به مقدار کم بود. این فراوانی در نمونه شاهد با افزایش مدت زمان نگه‌داری بیشتر می‌شد. به‌طوری‌که در پایان روز چهاردهم به حداکثر رسید. ولی میزان جمعیت باکتری (*Psudomonas* sp.) و کپک (*Aspergillus* sp.) در تیمارهای با پوشش و عصاره آویشن نسبت به شاهد کمتر بود. هرچند با افزایش مدت نگه‌داری روند افزایش جمعیت باکتری و کپک رابطه مستقیم دیده می‌شد (شکل7). نتایج نشان داد که پوشش‌دهی به تنهایی بر فراوانی جمعیت باکتری (*Psudomonas* sp.) و کپک (*Aspergillus* sp.)

تأثیر دارد و نسبت به شاهد از فراوانی کمتر و نسبت به عصاره آویشن از فراوانی بیشتر برخوردار می‌باشد، به‌طـوری کـه تیمارهـای حـاوی پوشش و آویشن از نظر فراوانی باکتری (*Psudomonas* sp.) و کپک (*Aspergillus* sp.) نسبت به پوشش تنهـا تفـاوت قابـل تـوجهی داشتند. هم‌چنین بین غلظت‌های مختلف آویشن شـیرازی و جمعیـت باکتری رابطه مستقیمی دیده می‌شد و بـا افـزایش غلظـت از میـزان آن‌ها به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاسته می‌شد (شکل 7).



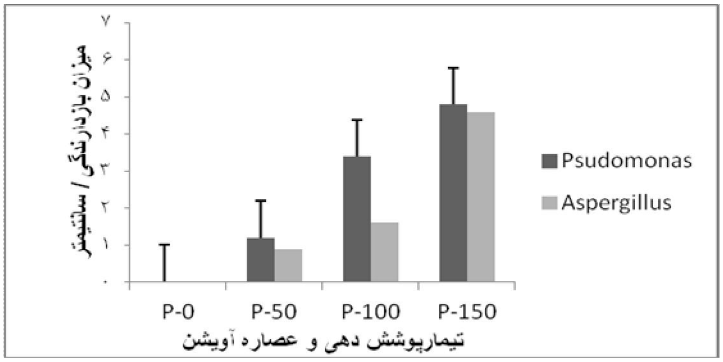
شکل 4- میزان بازدارندگی عصاره آویشن شیرازی از رشد باکتری

شاهد (الف)، غلظت 82/5 میلی‌گرم بر لیتر (ب)، 125 میلی‌گرم بر لیتر ج)

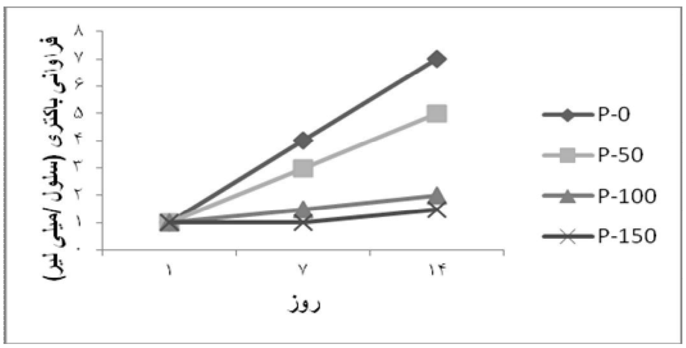


شکل 5- میزان بازدارندگی عصاره آویشن شیرازی از رشد کپک

شاهد (الف)، غلظت 82/5 میلی‌گرم بر لیتر (ب) غلظت 125 میلی‌گرم بر لیتر ج) غلظت 187/5 میلی‌گرم بر لیتر (د)



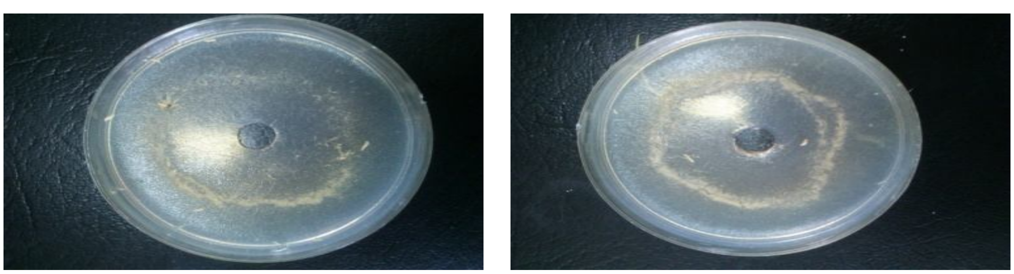
شکل 6- میزان تأثیر پوشش‌دهی و پوشش به‌همراه آویشن شیرازی بر بازدارندگی از رشد باکتری (*Psudomonas*) و کپک (*Aspergillus*) در روی محیط کشت



شکل 7- روند رشد جمعیت باکتری بر روی کلاهک قارچ ***Agaricus bisporus*** در مدت نگه‌داری

(P.0 = پوشش، P.50= پوشش و عصاره آویشن 82/5 میلی‌گرم بر لیتر، P.100 = پوشش و عصاره آویشن 125 میلی‌گرم بر لیتر و P.150= پوشش و عصاره آویشن 187/5 میلی‌گرم بر لیتر).

نتایج بدست آمده از استفاده تیمول در محیط کشت غذایی نشان داد که هر دو غلظت 70 و 105 میلی‌گرم بر لیتر مانع از رشد باکتری و کپک گردیدند. بطوری‌که بعد از سه روز از کشت باکتری در غلظت 70 میلی‌گرم بر لیتر ناحیه ممانعت‌کنندگی به شعاع 2 سانتی‌متر ایجاد گردید و غلظت 105 میلی‌گرم بر لیتر تیمول باکتری هیچ پیش روی به طرف مرکز حاوی تیمول نداشت (شکل8). نتایج مربوط به رشد کپک در محیط حاوی تیمول نشان داد که بعد از سه روز در غلظت 70 میلی‌گرم بر لیتر 1 سانتی‌متر و غلظت 105 میلی‌گرم بر لیتر 2 سانتی‌متر ناحیه ممانعت‌کنندگی ایجاد شد. هر چند بین دو غلظت 70 و 105 میلی‌گرم بر لیتر تیمول اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد دیده نشد.



الف ب

شکل 8- میزان بازدارندگی تیمول از رشد باکتری: **70** میلی‌گرم بر لیتر (الف) و **105** میلی‌گرم بر لیتر (ب)

پوشش‌دهی قارچ‌ها راه‌کاری سودمند برای توسعه ماندگاری قارچ‌ها می‌باشد. قارچ‌های پوشش‌دهی شده افت رطوبت کمتر، سفتی بیشتر و ویژگی‌های ظاهری و رنگ بهتری در مقایسه با قارچهای بدون پوشش دارند (زاهدی و همکاران، 1390). استفاده از پوشش‌های فعال مواد غذایی امروزه به‌طور گسترده‌ای به‌منظور افزایش طول عمر مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در تحقیق اجنوردی و همکاران (1390) نشان داد که با افزایش غلظت پروتئین آب پنیر و عصاره آویشن شیرازی و کاهش غلظت گلیسرول، میزان تغییرات رنگ میوه هلو انجیری به حداقل مقدار خود می‌رسد. در این پژوهش نیز مشخص شد تیمارهای دارای پوشش و پوشش با عصاره آویشن دوره ماندگاری بیشتری نسبت به شاهد دارند. بنابراین نتایج بدست آمده منطبق با کارهای سایر محققان می‌باشد.

امروزه در خصوص اثر آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی و اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی مطالعات زیادی صورت می‌گیرد که نشان‌دهنده تلاش برای کاهش استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و همچنین تمایل روز افزون مصرف‌کنندگان برای استفاده از افزودنی‌های طبیعی می‌باشد. اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی از منابع مفید ترکیبات ضدمیکروبی می‌باشند و معمولا تحت تاثیر مناطق مختلف جغرافیایی، سن گیاه، قسمت مورد استفاده گیاه و روش اسانس‌گیری می‌باشند (گواهیان و همکاران، 2012). در این پژوهش نیز مشخص شد که عصاره آویشن اثر ضدباکتریایی و کپکی دارد و با افزایش غلظت عصاره میزان بازدارندگی افزایش می‌یابد.

ترکیب‌های بسیار زیادی در اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی وجود دارند نتایج حاصل از بررسی آلیژیانس و همکاران (2001)، نشان داد هر چه میزان مواد فنولی اسانس بالاتر باشد اثرات ضدمیکروبی آن بیشتر می‌شود. همچنین عصاره آویشن شیرازی دارای ترکیب فنلی تیمول و کارواکرول است؛ که بیشترین نقش در ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی را دارا می‌باشد. در این پژوهش مشخص شد، آویشن شیرازی دارای ترکیب شیمیایی مختلف است که یکی از این ترکیب‌ها تیمول به میزان 2/96 درصد کل ترکیب‌ها را تشکیل می‌دهد و میزان مناسبی در جهت کنترل عوامل میکروبی می‌باشد.

بررسی جوانمرد و همکاران (1388)، نشان دادند که پوشش‌های حاصل از پروتئین آب پنیر بر روی مغز پسته حاوی عصاره الکلی آویشن شیرازی بطور معنی‌داری باعث جلوگیری از رشد قارچ *A. flavus* در رطوبت نسبی 75 درصد شدند. هم‌چنین ویودی و همکاران (2007) نشان دادند که اسانس آویشن باعث کاهش رشد میسلیوم قارچ *A. flavus* در مقادیر 2، 4 و 6 میلی‌لیتر و هم‌چنین مهار رشد در 8 میلی‌لیتر می‌شود. در این پژوهش نیز مشخص شد که عصاره آویشن به‌همراه پوشش اثر ضدباکتریایی و کپکی داشته و با افزایش غلظت عصاره میزان بازدارندگی افزایش می‌یابد.

بررسی‌های لاهوجی و همکاران (1389) نشان داد که اسانس‌های آویشن شیرازی با غلظت 16میکرولیتر در 100 میلی‌لیتر، مرزه با غلظت 31/5 میکرولیتر در 100 میلی‌لیتر، تیمول با غلظت 70 میکرولیتر در 100 میلی‌لیتر و کارواکرول با غلظت 15 میکرولیتر در 100 میلی‌لیتر، سبب بازداری کامل از رشد تمامی جدایه‌های قارچ *F. graminearum* در محیط پ-د-آ شده‌اند. مسکوکی و مرتضوی (1383) غلظت 200 میکرولیتر در 20 میلی‌لیتر از اسانس آویشن را بر قارچ *A. parasiticus* موثر دانسته‌اند.

با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش غلظت عصاره آویشن 125 میلی‌گرم بر لیتر و تیمول 70 میلی‌گرم بر لیتر مناسب برای پوشش‌دهی و ممانعت از رشد باکتری می‌باشند. ولی در مورد کپک غلظت عصاره آویشن187/5 میلی‌گرم بر لیتر و تیمول 105 میلی‌گرم بر لیتر مناسب برای پوشش‌دهی و ممانعت از رشد کپک می‌باشند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تیمول نقش موثری در ممانعت از رشد باکتری و کپک دارد.

نتیجه‌گیری

آویشن شیرازی با دارا بودن ترکیبات موثری مانند تیمول می‌تواند به‌عنوان پوشش مناسبی بر روی مواد غذایی به‌ویژه قارچ خوراکی استفاده نمود تا زمان ماندگاری آن را بعد از برداشت افزایش داد.

منابع

Ali, M., Saleem, M., Ali Z & Ahmad, VU. 2000, Chemistry of *Zataria multiflora* (Laminaceae).*Phytochem*, 55: 933 - 6.

Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Chinou, IB., Mitakou, S., Gikas, E, &Tsarbopoulos, A. 2001, Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Wave taxa* of Sideritis from Greece. *J. of Agricultural and Food Chem*, 49, 811 – 5.

Ajnorde, S., Javanmard, M. and Asadallahe, S. 2012. Iranian Food Scince and Technology Research Journal 8(3): 337-348.

Durling, NE., Catchpole, OJ., Grey, JB., Webby, RF., Mitchell, KA., Foo, LY., & Perry, NB. 2007,
Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol – water Mixtures, *Food*

Chem, 101, 1417 - 24.
Doster, MA, & Michailides, TJ. 1994, Aspergillus molds and aflatoxin in pistachio nuts in california.*Phytopathol*, 84, 583 - 90.
Didry, N., Dubreuil, L., Pinkas, M. 1994, Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenole on oral bacterial, *Pharm, Acta. Helv*, 69, 25-8.
Jiang, T. 2013. Effect of alginate coating on physicochemical and sensory qualities of button mushrooms (Agaricus bisporus) under a high oxygen modified atmosphere. *Postharvest Biology and Technology*. 76: 91–97
Masson, Y., Ainsworth, P., Fuller, D,.Bozkurt, H,. and Ibanoglu, S. 2002, Growthof Pseudomonas fluorescens and Candida sake in homogenized mushroom under modified atmosphere. *Journal of Food Engineering*, 54. 125- 131.
Hershko, V. and Nussinovitch, A. 1998,. Relationships between Hydrocolloid Coating and Mushroom Structure, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, pp 2988-97.
Hosseini, S.M. M. A.2008. Microbial, Physical and Mechanical Properties of Chitosan Based Edibie Films Incorporated with Thyme nd Clove Essential Oils. JFST 5(2):41-49.
Javanmard ,M. and Ramazan, Y. 2009. Application of Edible Coatings Incorporated Avishan-e Shirazi (*Zataria multiflora*) Alcoholic Extract for Inhibition of *Aspergillus flavus* Growth on the Pistachio Kernel. Journal of Medicinal Plants 8(2):61-70.
Kraft, K, & Hobbs, C. 2004, Pocket guide to herbal medicine, 1th Ed, New York, Thieme Stuttgart, pp: 61 – 2.
Lahooji, A., Mirabolfathy, M. and Karami-Osboo. 2010. Effect of *Zataria multiflora* and *Satureja hosrtensis* essential oils, thymol and carvacrol on growth of *Fusarium gramineum* isolates and deoxynivalenol production. Iran Journal Plant Pathology 46(1):11-13.
Mahboubi M, Feizabadi M. . 2009. The Antimicrobial Activity of Thyme, Sweet Marjoram, Savory and Eucalyptus oils on *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*. JMP; 2 (30) :137-144
Rasooli, I., Rezaei, MB., Allameh, A. 2006, Inhibition and morphological alterations of Aspergillus niger by essential oils from Thymus eriocalyx and Thymus xporlock, *Food Control*, 17, 359 – 4.
Thompson, DP. 1989, Fungi toxic activity of essential oil components on food storage fungi, *Mycologia*, 81, 151 – 3.
Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez J and Perez-Álvarez JA. 2007. Antifungalactivities of thyme, clove and oregano essential oils. *J. of Food Safety*; 27 (1): 91 – 101.
Zahade, Y. and Sadagad, N. 2011. Increase the *Agaricus bisporus* fungus survival through acidic washing and coating with biopolymers. 20th Congress of Food Science and Technology. P.11
Ultee, A., Kets, EPW, & Smid, EJ. 1999, Mechanism of action of carvacrol on the food borne pathogen Bacillus cereus, *Applied and Environmental Microbiol*, 65 (10), 4606 - 10.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 566-574

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 574-566

Study of antimicrobial properties of *Zataria multiflora* extract and timol on durability and stability of edible mushroom *(Agaricus bisporus)*

M. Rastegar[1], S. E. Razavi[2*], P. Ebrahimi[3]

Received: 2015.05.24
Accepted: 2016.01.25

Introduction: White button mushroom (*Agaricus bisporus*) has a high moisture content (~90%) which makes it more vulnerable to the germs and chemical reactions. The contents of fungus coating are beneficial for shelf-life extension of mushroom. Coated mushrooms loss less moisture and have firmness, better appearance and color features than uncoated mushrooms (Zahedi et al., 1390). Application of food coatings is widely used in order to extend the shelf-life of foods including mushrooms. These methods include improved packaging methods, coated treatment with a solution of anti-microbial, plant extracts and anti-browning agents. The essential oil of thyme plant *(Zataria multiflora*) contains derivatives of phenol such as carvacrol and thymol (Aligiannis *et. al*, 2001). The interaction of essential components with each other plays an important role in determining antimicrobial effect. Therefore, the synergistic antimicrobial effects of thymol and carvacrol are enhanced (Didry *et. al*, 1994). It is worth noting that carvacrol through changes in permeability of H^+/K^+ ion channel in the cell membrane leads to the suppression of cell dysfunction and ultimately death (Ultee *et al*, 1999).

Materials and methods: Cap of button mushroom was coated by carboxymethyl cellulose, glycerol and thyme extract. In order to identify the thyme components, GC Mass model VARIAV CP3800 and VF5MS column was used. Also to measure the amount of thymol in thyme extract, HPLC method was used. The cap of button mushroom was sampled in three days (first day, seventh and fourteenth) and cultured in the food culture of PDA and NA.

Results and discussion: The results showed that the bacteria *Psudomonas* sp. and the mold *Aspergillus* sp. in various stages of maintenance of the control samples are observed in the warheads. The coating with thyme extract reduced the population of bacteria and mold. The results also showed that the medium level of microbial density was reduced with increasing concentrations of thyme extract. Therefore, the bacteria and mold did not grow in the extract concentration of 5.187 mgL^{-1}. Thymol in a concentration of 70 and 105 ppm inhibited the growth of bacteria and mold, respectively. According to the results, 5.187 ppm thyme extract and 105 ppm thymol are suitable for coating and prevent the growth of bacteria and mold. The population of bacteria and mold in the treated and untreated samples of mushroom cap were identical. It was much more in the control sample with increasing storage time and was maximum at the end of the fourteenth day. The population of bacteria and mold in the coated samples and thyme extracts was lower than control samples. The direct relationship was observed with increasing storage time in the population growth of bacteria and mold. Lyzhyans et al. (2001) showed that the amount of phenolic oil is higher, the more antibacterial activity. The extract of thyme also contain phenolic compounds of thymol and carvacrol which have the most important role in creating antioxidant properties.

Key Words: Agaricus bisporus, carboxymethyl cellulose, Pseudomonas, Zataria multiflora.

1. M. Sc. Center Laboratory, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resource, Gorgan, Iran
2. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resource, Gorgan, Iran.
3. Associate Professor, Department of Chemistry, Golestan University, Gorgan, Iran.
(Corresponding author email address: razavi@gau.ac.ir)